

# 1 RAPPELS DE LA PHYSIOPATHOLOGIE ET DE LA SÉMIOLOGIE CLINICOBIOLOGIQUE

## INTRODUCTION

Le diagnostic des maladies hémorragiques ou thrombosantes implique la connaissance, au moins sommaire, de la physiologie de l'hémostase et des mécanismes de ses dérèglements. Il est à la fois fondé sur l'analyse clinique et sur les explorations biologiques dont les performances ont considérablement augmenté ces dernières années.

## PHYSIOLOGIE DE L'HÉMOSTASE

Ismail ELALAMY, François DEPASSE, Gregoris GEROTZIAFAS,  
Meyer-Michel SAMAMA

L'hémostase est le processus physiologique regroupant les différents mécanismes qui assurent la prévention des saignements spontanés et l'arrêt des hémorragies en cas de rupture de la continuité de la paroi vasculaire par la formation d'un thrombus. Elle comprend :

- l'hémostase primaire avec le temps vasculaire et le temps plaquettaire;
- la coagulation avec ses différentes étapes;
- la fibrinolyse dont le rôle exact reste imparfaitement connu.

Les mécanismes impliqués dans ces processus sont complexes et intimement intriqués (fig. 1.1).

## Physiologie de l'hémostase primaire

L'hémostase primaire fait intervenir trois acteurs principaux : les vaisseaux et en particulier l'endothélium vasculaire -, les plaquettes et le facteur von Willebrand (VWF) ou facteur Willebrand. Le fibrinogène, à l'état de traces, est également nécessaire à l'hémostase primaire.

### Temps vasculaire

L'endothélium intact est non thrombogène. En cas de brèche vasculaire, une vasoconstriction réflexe immédiate mais transitoire des petits vaisseaux lésés favorise l'interaction plaquettes-endothélium vasculaire. Les plaquettes

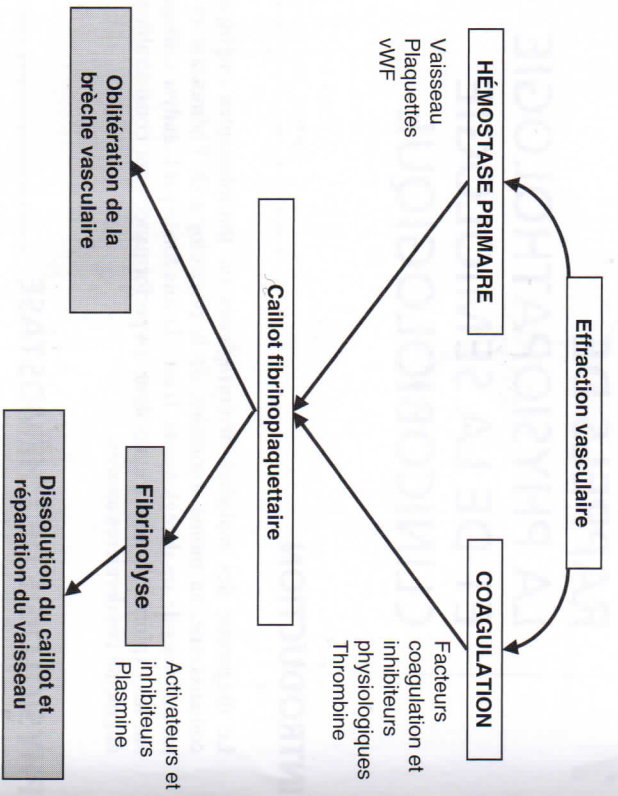


Fig. 1.1. Les trois étapes de l'hémostase.

renforcent cette vasoconstriction grâce à l'apport d'adrénaline, de noradrénaline et de sérotonine au niveau de la lésion. Une fois activées, elles sont en outre capables de synthétiser localement du thromboxane A<sub>2</sub> (TxA<sub>2</sub>) doté de propriétés proagrégantes et vasoconstrictrices. Les cellules endothéliales sécrètent en revanche de la prostacycline (PGI<sub>2</sub>) et du monoxyde d'azote (NO) dont l'action, opposée à celle du TxA<sub>2</sub>, assure l'équilibre nécessaire au bon déroulement des premières étapes de l'hémostase. Le dysfonctionnement endothélial occupe désormais une place importante en pathologie vasculaire.

**Temps plaquettaire**

Le bon déroulement de cette étape requiert l'intégrité des différentes fonctions plaquettaires (fig. 1.2).

Après la blessure vasculaire, les plaquettes viennent adhérer aux surfaces sous-endothéliales avant de sécréter leur contenu granulaire et d'agréger. L'adhésion est facilitée par la fixation du VWF plasmatique à la glycoprotéine Ib présente sur la membrane plaquettaire.

L'agrégation des plaquettes fait intervenir l'interaction entre le fibrinogène et le complexe glycoprotéique IIb/IIIa à la surface plaquettaire (α<sub>2</sub>β<sub>3</sub> intégrine). Simultanément, les plaquettes amplifient la génération de thrombine, en expo-

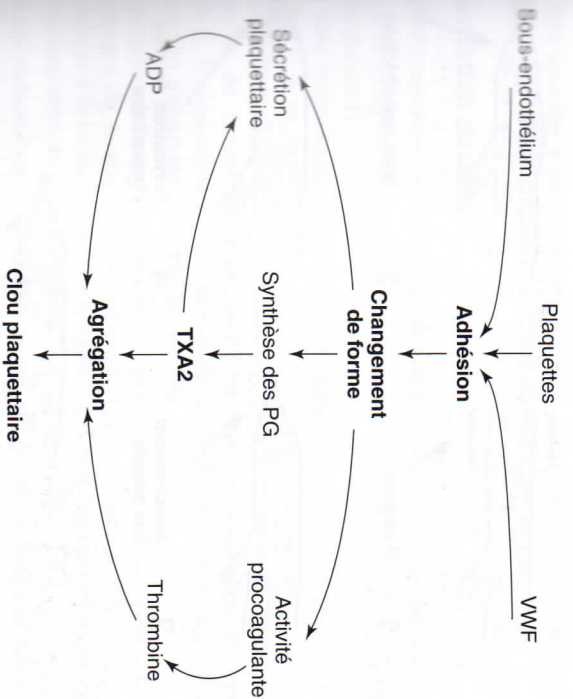


Fig. 1.2. Étapes du temps plaquettaire.

sant des phospholipides anioniques membranaires, supports indispensables à l'activation des différents facteurs plasmatiques de la coagulation (tableau 1.1). Les premières traces de thrombine transforment le fibrinogène

**Tableau 1.1. Facteurs de la coagulation avec leurs caractéristiques essentielles**

Facteur	Synonyme	Lieu de synthèse	Concentration (mg/l)	Demi-vie (heure)	Taux minimum nécessaire à l'hémostase	Vitamine K dépendant
I	Fibrinogène	Foie	2-4 × 10 <sup>3</sup>	120	0,5 à 1 g/l	non
II	Prothrombine	Foie	100-150	80	40 %	oui
V	Proacétérine	Foie	5-10	24	10 à 15 %	non
VII	Proconvertine	Foie	0,35-0,6	6	5 à 10 %	oui
VIII	F antihémophilique A	Foie + SRH	0,1-0,2	12	30 à 50 %	non
IX	F antihémophilique B	Foie	3-5	24	30 à 50 %	oui
X	Facteur Stuart	Foie	7-17	48	10 à 20 %	oui
XI	Facteur Rosenthal	Foie	3-6	60	environ 30 %*	non
XII	Facteur Hageman	Foie	30-40	60	-	non
XIII	Facteur de stabilisation de la fibrine	Foie	20-30	240	2 à 3 %	non

\* Valeur insuffisamment documentée.  
 (SRH) = système réticulo-histocytaire.

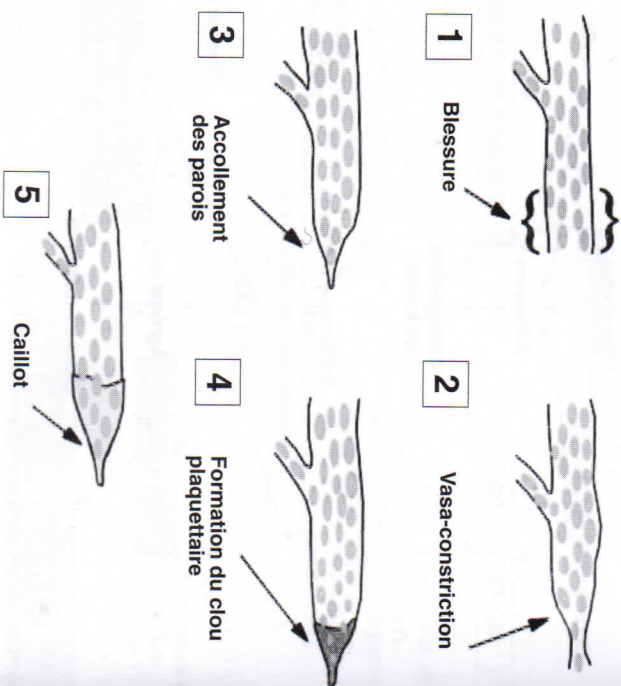


Fig. 1.3. Schéma de Quick : les trois temps de l'hémostase.

soluble en fibrine insoluble contribuant à la formation des agrégats plaquet-taires irréversibles.

La plaquette, annulée, participe à de nombreux processus physiopathologi-ques grâce à ses capacités :

- mécaniques : contractilité et déformabilité;
- sécrétrices : dégranulation et synthèse des prostaglandines.

La place occupée par le VWF au sein des plaquettes et dans le plasma est également importante.

Les tests d'agrégation sont utiles dans l'étude du fonctionnement plaquettaire et le diagnostic des thrombopathies. Ils permettent aussi d'évaluer la réponse à un traitement antiplaquettaire ou de faire le diagnostic biologique des throm-bopénies induites par l'héparine (TIH).

Les trois temps - vasculaire, plaquettaire et plasmatique (coagulation) - sont indiqués dans le schéma proposé par Quick (fig 1.3).

### Physiologie de la coagulation

La coagulation doit être appréhendée de manière dynamique. Après son initia-tion, elle s'amplifie. Mais elle doit rester localisée à la brèche vasculaire et ne

pas être associée à une hypercoagulabilité circulante ou systémique. À cet effet, des mécanismes régulateurs importants sont mis en jeu.

### Représentation classique

Pendant longtemps, ont été distinguées dans la cascade de la coagulation :

- la voie extrinsèque explorée par le temps de Quick (TQ) ou temps de prothrombine (TTP);
- la voie intrinsèque, explorée par le temps de céphaline avec activateur (TCA).

Le schéma classique de la coagulation repose sur le TQ et le TCA (voie extrin-sèque ou du facteur tissulaire ou FT et voie intrinsèque ou du système contact). Il conserve une place essentielle en biologie dans le diagnostic des principales altérations de la coagulation (fig. 1.4).

L'activateur extrinsèque du facteur X (*extrinsic Xase* ou ténase) et l'activateur intrinsèque du facteur X (FX, *intrinsic Xase*) activent le FX en FXa. Ils conduisent à la formation de prothrombinase. Cette dernière est à l'origine de la transformation de la prothrombine (FII) en thrombine (FIIa).

Tous ces phénomènes se produisent au contact des phospholipides à la surface membranaire des plaquettes, ou contenus dans les réactifs thromboplastine et céphaline utilisés pour la réalisation des temps de coagulation globaux, le TQ et le TCA.

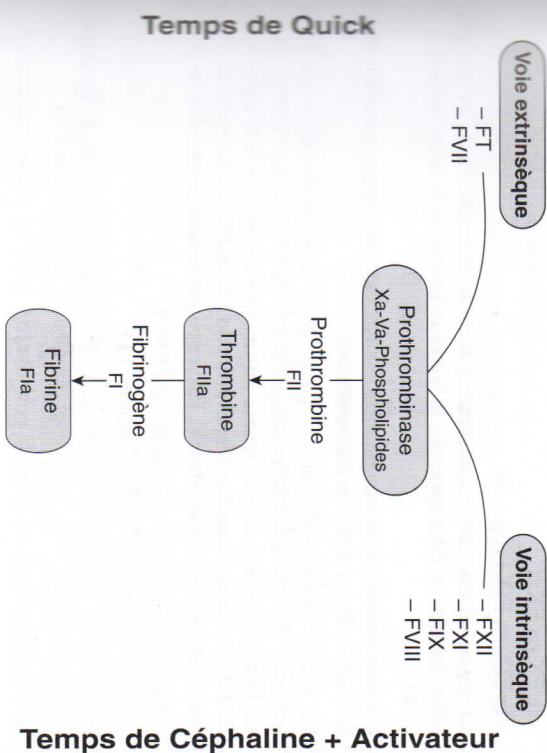


Fig. 1.4. Schéma classique de la coagulation.

## Représentation moderne

Plus dynamique que la précédente, elle est aussi plus représentative des phénomènes *in vivo* initiés par la mise à nu du FT (composant de la thromboplastine). Il est présent dans le sous-endothélium mais il n'apparaît au niveau de l'endothélium que lorsque celui-ci est anormal, lésé ou activé. Il peut également être exprimé à la surface des macrophages ou des monocytes activés, au niveau d'une plaque athéroscléreuse par exemple. Il a récemment été démontré que des traces de FT soluble existent dans le sang circulant. Le FT est également exprimé sur la membrane de cellules cancéreuses, à des quantités variables selon le type histologique. Les microparticules d'origine plaquettaire qui se produisent au cours de la formation des complexes leucoplaquettaires, constituent une autre source de FT.

Le FVII est le seul facteur de la coagulation présent à l'état de traces dans le plasma, sous sa forme activée; sa demi-vie à l'état activé est plus longue que celles des autres facteurs Va, VIIIa et FT. Cependant, le FVIIa isolément n'a pas d'activité enzymatique. Celle-ci ne se manifeste qu'après la liaison du FVIIa avec le FT et la formation du complexe FT-VIIa, qui est le détonateur de la coagulation. Il active un petit nombre de molécules de FX en FXa. Ce dernier initie rapidement l'activation d'un petit nombre de molécules de prothrombine avec génération des premières traces de thrombine indispensables à la continuation et à l'amplification du processus de la coagulation.

L'activation des plaquettes, du facteur V (FV) en FVa et du FVIII (appelé aussi facteur antihémophilique A) en FVIIIa est réalisée par ces premières traces de thrombine.

Le complexe FT-VIIa active :

- le FX en FXa;
- le FIX en FIXa (fig 1.5).

La première réaction est prioritaire, mais la seconde n'est pas à négliger. En effet, lorsque le FXa apparaît, il favorise lui-même la transformation du FIX en FIXa.

Le phénomène de la coagulation évolue par des étapes caractérisées par la formation des complexes enzymatiques.

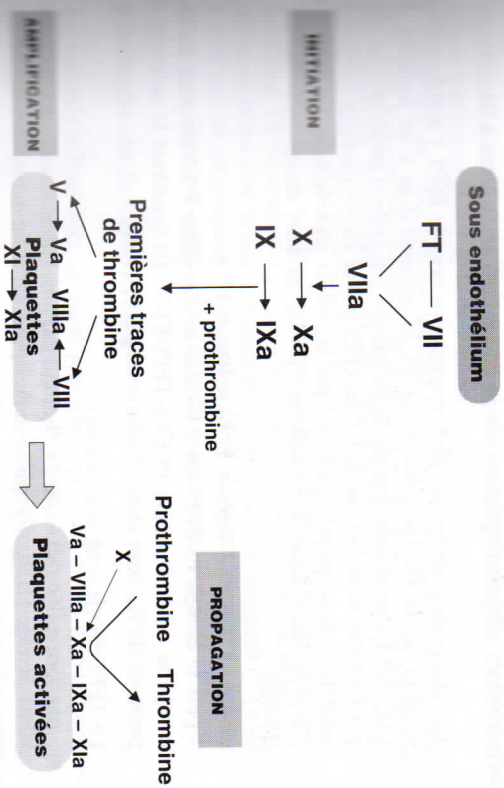
La ténapse intrinsèque (ou activateur de la voie intrinsèque) est formée en présence des phospholipides plaquettaires, du FVIIIa, du FIXa et de calcium. Le FIXa incorporé dans la ténapse intrinsèque constitue l'activateur intrinsèque du FX. Ce dernier amplifie l'activation du FX en FXa. Cette réaction permet la poursuite de l'activation du FX. Elle explique le mécanisme des hémorragies :

- dans l'hémophilie A par déficit en FVIII;
- dans l'hémophilie B par déficit en FIX.

Puis, le FXa permet la formation d'une première quantité de prothrombinase constituée par le FXa, les phospholipides, le calcium et le FVa.

Schématiquement on décrit la coagulation selon les étapes suivantes :

- le complexe FT-FVIIa est responsable de l'initiation de la génération de thrombine;



D'après Hoffman, Monroe : Cell mediated Hemostasis

Fig 1.5. Schéma moderne simplifié de la coagulation en excluant les inhibiteurs (initiation, amplification, propagation).

La formation de la prothrombinase amplifie la génération de thrombine;

la ténapse intrinsèque et la prothrombinase sont responsables de la propagation de la génération de thrombine.

L'apparition des premières traces de thrombine est nécessaire à l'activation du FV en FVa, du FVIII en FVIIIa et permet l'amplification du processus de coagulation. La thrombine induit aussi le processus de sa neutralisation via l'activation de la protéine C (PC).

Au total, la coagulation normale est caractérisée par une phase d'initiation où l'intervention du FT à la surface des plaquettes est essentielle. Lui succède une phase d'amplification, impliquant une activation des plaquettes et des facteurs plasmatiques (FV, FVIII, FIX, FXI...) afin de permettre la génération de la prothrombinase.

Ensuite, la phase de propagation entraîne la génération de grandes quantités de thrombine à la surface des plaquettes. La génération de thrombine n'est plus un phénomène plasmatique puisque non seulement les plaquettes mais aussi les leucocytes (notamment les monocytes) peuvent jouer un rôle important.

Ainsi, la voie extrinsèque démarre *in vivo* la génération de la thrombine tandis que la voie intrinsèque assure la persistance de la génération de thrombine pendant le temps nécessaire et suffisant pour assurer l'hémostase physiologique.

La reprise retardée du saignement dans l'hémophilie illustre bien le rôle de la voie intrinsèque de la coagulation.

**Inhibiteurs physiologiques de la coagulation** (tableau 1.II)

Les principaux inhibiteurs de la coagulation sont le TFPPI, l'antithrombine, le système de la PC (protéines C et S), la protéine Z et à un moindre degré l' $\alpha$ -2-AP. La génération initiale de thrombine (ou étape d'initiation) est régulée par l'inhibiteur de la voie du FT, le TFPPI (*tissue factor pathway inhibitor*), un inhibiteur plasmatique synthétisé par la cellule endothéliale. Le TFPPI inhibe l'activité catalytique du complexe FT-VIIIa en deux étapes (voir fig. 1.5, ci-dessus) :

- dans un premier temps, le TFPPI se fixe au FXa;
- puis le complexe TFPPI-Xa s'associe au complexe FT-VIIa pour former le complexe quaternaire inactif FXa-TFPPI-FT-FVIIa (justifiant la nécessité de la présence du Xa pour initier l'inhibition par le TFPPI).

Le TFPPI circule sous deux formes :

- une forme liée (80 % du TFPPI circulant) aux lipoprotéines (lipoprotéines de haute densité : HDL, lipoprotéine A, lipoprotéine de faible densité LDL);
- une forme libre étant responsable de l'activité anticoagulante.

*In vivo*, l'héparine (héparine non fractionnée [HNF] et héparine de bas poids moléculaire [HBPMP]) déplace le TFPPI fixé aux glycosaminoglycans de la paroi vasculaire, avec pour conséquence une augmentation de son activité inhibitrice.

Dans le même temps, la thrombine en présence de thrombomoduline (TM) permet l'activation de la PC en PC activée (PCa), capable d'inhiber en présence de protéine S les facteurs Va et VIIIa (fig. 1.5). De plus, dans l'inactivation du FVIIIa, le FV joue un rôle de cofacteur. Cette fonction sera déficiente en cas de mutation du FV (FV Leiden). Cette boucle de rétroactivation négative démontre la complexité du phénomène et son caractère dynamique, en parfait équilibre en cas d'hémostase normale. La thrombine coagulant, génère elle-même un anticoagulant : la PCa. Protéine de

**Tableau 1.II. PM et concentrations des principaux inhibiteurs**

Facteur	PM (Da)	Concentrations ( $\mu$ g/ml)	Concentrations plasmatiques ( $\mu$ M)	Vitamine K-dépendant
AT	58 000	140	2,4	non
PC	62 000	4	0,064	oui
PS	69 000	10 (libre)	1,144	oui
PZ	72 000	2,6	0,04	oui
$\alpha$ 2-antiplasmine	63 000	66	0,95	non
$\alpha$ 2-macroglobuline	725 000	2,100	2,89	non
TFPI*	34 000	0,073	0,002	non

\* Localisée dans les cellules endothéliales

membrane endothéliale, la TM est un protéoglycane récepteur de la thrombine faisant partie intégrante de la membrane des cellules endothéliales.

L'antithrombine (AT) agit sur presque tous les facteurs activés de la coagulation. Elle joue un rôle essentiel pour freiner les mécanismes de coagulation. Anciennement dénommée ATIII (antithrombine III), l'AT inhibe à la fois le FVIIIa, le FXa, le FXIa et la thrombine.

La protéine Z (PZ) circule dans le sang sous la forme d'un complexe avec un inhibiteur PZ-dépendant (PZI, pour *protein Z inhibitor*). Cet inhibiteur est une sérine protéase dont la concentration plasmatique est de 38  $\mu$ g/ml (53 nM/ml). La PZ sert de catalyseur à la neutralisation du facteur Xa par PZI, en présence de phospholipides. Le PZI inhibe le FXIa sans le concours de la PZ.

### Physiologie de la fibrinolyse

La fibrinolyse intervient de façon physiologique pour éviter le dépôt excessif de fibrine et sans doute pour assurer la reperméabilisation d'un vaisseau, après formation d'un thrombus. Dans le plasma normal circule une glycoprotéine, le plasminogène qui va être activé en plasmine grâce à l'action d'activateurs plasmatiques ou tissulaires. La plasmine, enzyme protéolytique, agit ainsi sur la fibrine, mais aussi sur le fibrinogène et les facteurs V et VIII de la coagulation, pour lysar le caillot et former des produits de dégradation de la fibrine (D-dimères [D-Di]) et du fibrinogène. La libération d'inhibiteurs de la fibrinolyse empêche la dissémination du phénomène, au-delà du thrombus ou du dépôt de fibrine.

Les auteurs modernes appellent le système fibrinolytique le système du plasminogène en raison de son intervention dans d'autres réactions telles que l'activation des métalloprotéases au niveau de la matrice tissulaire.

Le plasminogène est une glycoprotéine constituée par une chaîne unique de 790 acides aminés, synthétisée dans le foie. L'hydrolyse de la liaison arginine 560-valine 561 le transforme en plasmine. Celle-ci est une sérine protéase douée de propriétés protéolytiques vis-à-vis de nombreux substrats : fibrinogène, fibrine... Son PM, de 88 000 Da, est le même que celui du plasminogène. La plasmine comprend deux chaînes d'acides aminés.

Il existe trois voies distinctes entraînant l'activation du plasminogène en plasmine :

- une voie vasculaire faisant intervenir l'activateur tissulaire du plasminogène (t-PA);
- une voie plasmatique à deux branches :
  - l'une dépendant de la phase contact dont la réalité et la pertinence clinique sont discutées,
  - l'autre, beaucoup plus importante, de l'activation de la pro-urokinase (ProUK) en urokinase (UK) (fig. 1.6).

Plusieurs activateurs du plasminogène peuvent intervenir :

- le t-PA est une sérine protéase composée d'une seule chaîne de 527 acides aminés. Il est actif sous cette forme. Une seconde forme active apparaît après l'hydrolyse d'une liaison disulfure S-S entraînant la formation d'une molécule

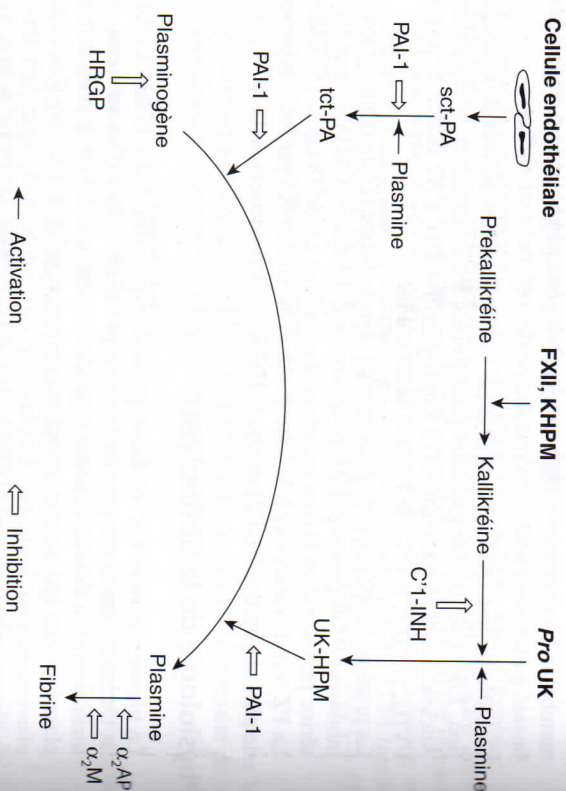


Fig. 1.6. Voies d'activation du plasminogène en plasmine.

sct-PA = single chain t-PA       $\alpha_2AP$  = alpha 2-antiplasminine  
tct-PA = two chain t-PA       $\alpha_2M$  = alpha 2-macroglobuline

de t-PA à deux chaînes, également active. Le t-PA a une activité faible en l'absence de fibrine qui augmente son affinité pour le plasminogène. Il est aussi beaucoup plus actif à la surface de la fibrine (fibrinospécificité) qu'en milieu plasmatique. Il en résulte une moindre diminution du fibrinogène circulant après son administration thérapeutique.

— l'UK, présente dans l'urine, est une sérine protéase composée de deux chaînes polypeptidiques. Il existe une UK à une seule chaîne ou scu-PA (single chain urokinase type plasminogen activator). Elle peut être transformée en UK à deux chaînes.

La streptokinase et la staphylokinase sont deux agents fibrinolytiques non physiologiques utilisés en thérapeutique.

Les inhibiteurs de la fibrinolyse comprennent :

- l' $\alpha_2$ -antiplasminine, un très puissant inhibiteur de la plasminine;
- un inhibiteur principal de l'activation du plasminogène (PAI-1);
- l'anti-Cl estérase qui appartient à la voie du complément et inhibe la voie contact;

— l'histidine rich glycoprotein (HRGP) inhibe également l'activation du plasminogène selon un mécanisme comparable à celui de l'agent antifibrinolytique thérapeutique, l'acide aminocaproïque. Elle inhibe la fixation du plasminogène sur la fibrine;

enfin, un nouvel inhibiteur de la fibrinolyse, le TAFI (pour thrombin activatable fibrinolysis inhibitor) est décrit. Son rôle est important dans l'équilibre physiologique existant entre la coagulation et la fibrinolyse. Il est activé par le complexe thrombine-TM en TAFIa, carboxypeptidase inhibitrice de la fibrinolyse.

La découverte du TAFI rend compte de l'existence d'un véritable lien moléculaire entre les processus de la coagulation et ceux de la fibrinolyse. Ainsi, la formation de thrombine favorise l'activation du TAFI et entraîne une inhibition de la fibrinolyse. La réduction de la concentration de la thrombine au niveau d'un thrombus le rend plus vulnérable à la fibrinolyse.

Le t-PA active essentiellement la fibrinolyse systémique tandis que l'UK est considérée comme le principal activateur de la fibrinolyse cellulaire. En effet, à côté de la fibrinolyse physiologique, il faut faire une place importante à une fibrinolyse cellulaire, au sein même des cellules. Ainsi, au cours de la lésion promyélocytaire survient un syndrome de défibrination avec hémorragies.

## BIBLIOGRAPHIE

- AND WC. Endothelium in health and disease. *Pharmacol Rep* 2008; 60 (1): 139-143.
- BOUMA BN, MOSNIER LO. Thrombin activatable fibrinolysis inhibitor (TAFI) how does thrombin regulate fibrinolysis? *Ann Med* 2006; 38 (6): 378-388.
- BLALAMY I, SAMAMA MM. Physiologie de l'hémostase. *Encycl Med Chir* Angéologie, Elsevier, Paris, 2001.
- FURIE B, FURIE C. Thrombus formation in a living mouse. *J Pathophysiol Haemost Thromb* 2006; 35: 1-4.
- FURIE B, FURIE C. Mechanisms of thrombus formation. *N Engl J Med* 2008; 359: 938-949.
- HOFFMAN M, MONROE DM. Coagulation 2006: a modern view of hemostasis. *Hematol Oncol Clin N* 2007; 21: 1-11.
- MAEDA Y, FUJINO Y, UCHIYAMA A, MATSUURA N, MASHIMO T, NISHIMURA M. Effects of peak inspiratory flow on development of ventilator-induced lung injury in rabbits. *Anesthesiology* 2004; 101 (3): 722-728.
- MERCALIF FL. Fibrinolysis inflammation and regulation of the plasminogen activity system. *J Thromb Haemost* 2007; 5S1: 132-142.
- MONROE DM, KEY NS. The tissue factor-factor VIIa complex: procoagulant activity, regulation, and multitasking. *J Thromb Haemost* 2007; 5: 1097-1105.

## APPROCHE CLINICOBIOLOGIQUE DU PATIENT SUSPECT DE MALADIE HÉMORRAGIQUE

François DEPASSÉ, Ismail ELALAMY, Gregoris GEROTZIAPAS,  
Meyer-Michel SAMAMA, Patrick VAN DREDEEN

### Circonstances du diagnostic

Il s'agit le plus souvent d'un motif de consultation à la suite d'un ou plusieurs épisodes hémorragiques ou pour vérifier le fonctionnement normal de l'hémostase. En milieu chirurgical ou obstétrical, la responsabilité de l'acte vulnérant doit être éliminée, mais une diathèse hémorragique congénitale ou acquise peut être révélée chez un opéré récent. Il faut distinguer une hémorragie focale, en rapport avec une cause locale, du saignement au niveau de territoires différents évoquant davantage un trouble de l'hémostase.

Diverses étapes sont essentielles dans cette approche clinicobiologique :

- évaluation de l'importance du saignement et du caractère d'urgence;
- interrogatoire du patient sur ses antécédents personnels et familiaux;
- recherche de la relation de cause à effet entre l'accident hémorragique et le contexte thérapeutique;
- association éventuelle de l'affection actuelle à des problèmes d'hémostase et/ou à un risque hémorragique accru;
- confrontation de l'examen clinique et des résultats des examens biologiques antérieurs;

– en cas d'alimentation parentérale, une carence en vitamine K est possible;

– recherche de stigmates biologiques et/ou cliniques de la coagulation intravasculaire disséminée (CIVD), ou d'une complication iatrogène : héparine, antivitamine K (AVK), thrombolytiques, transfusions massives, perfusions de solutés de remplissage (amidon).

De même, cinq caractères essentiels associés ou non doivent être recherchés :

- le mode d'apparition : saignements spontanés ou déclenchés par un traumatisme mineur (choc léger, injection intramusculaire);
- la localisation : la répétition des saignements dans le même territoire évoque plutôt une lésion locale, tandis que leur apparition dans des territoires différents oriente vers une diathèse hémorragique constitutionnelle ou acquise;
- l'aspect clinique :
  - les saignements cutanéomuqueux à type de purpuras, pétéchies, ecchymoses ou épistaxis traduisent souvent une anomalie de l'hémostase primaire,
  - les télangiectasies évoquent la maladie de Rendu-Osler;
- le caractère récidivant;
- l'existence d'antécédents familiaux.

### Interrogatoire, examen et renseignements cliniques

L'interrogatoire approfondi et précis du patient ainsi que la communication par le clinicien au biologiste de renseignements cliniques concernant les circonstances de la demande d'examen sont indispensables. Le type et les circonstances de survenue d'événements hémorragiques (ecchymoses, purpura cutané ou cutanéomuqueux, épistaxis, hématurie, ménorragies, hématomes, télangiectasies, hémarthrose par exemple), la notion d'accident isolé ou au contraire récidivant, l'âge du patient au moment du premier accident, la prise éventuelle de médicaments et l'histoire familiale aident le biologiste dans sa démarche diagnostique.

L'examen clinique permet aussi la mise en évidence de signes cliniques éventuels (directs ou indirects) de la pathologie hémorragique. Le cas échéant, il permet de découvrir une pathologie sous-jacente, en relation possible avec le syndrome hémorragique. L'examen clinique contribue à la distinction entre un simple saignement épisodique et une authentique altération de l'hémostase. Les saignements peuvent revêtir des formes diverses qu'il convient de définir. Il peut s'agir de gingivorragies provoquées ou spontanées, d'épistaxis, de métrorragies, d'hématuries, de rectorragies, ou de melæna. Les hématomes peuvent atteindre n'importe quel territoire du corps. Ils peuvent être sous-cutanés, musculaires, parfois compressifs avec risque de perte d'une fonction, ou même cérébraux avec mise en jeu du pronostic vital. Enfin, les hémarthroses sont des saignements survenant à l'intérieur des articulations, spontanément, suite à un effort prolongé ou à un traumatisme. Ils peuvent entraîner une arthropathie menaçant l'articulation. Les hémarthroses non traumatiques évoquent en première analyse une hémophilie majeure.

Au cours de l'interrogatoire, il faut également rechercher une prise médicamenteuse et établir la liste exhaustive des traitements pris dans les 10 derniers jours (anticoagulants, antibiotiques, anti-inflammatoires non stéroïdiens et autres antiagrégants plaquettaires).

L'examen clinique doit toujours précéder l'exploration biologique. Il doit rechercher des pétéchies, un purpura, des télangiectasies (lobe de l'oreille, langue, extrémités des doigts). Les muqueuses orales (gencives, langue) doivent également être examinées après retrait de toute prothèse dentaire amovible. L'existence de bulles hémorragiques, d'hématomes, de déformations articulaires est importante à noter. L'examen hématologique classique comprend aussi la palpation des aires ganglionnaires, du foie et de la rate. Le plus souvent, l'interrogatoire et l'examen clinique bien conduits suffisent chez l'adulte à affirmer ou non l'existence d'une maladie hémorragique dans 90 % des cas.

Des pétéchies et des ecchymoses d'apparition spontanée orientent vers une anomalie de l'hémostase primaire de type vasculaire tandis que des hémorragies spontanées à type également de pétéchies et ecchymoses mais aussi d'hémorragies cutanéomuqueuses, de gingivorragies, d'épistaxis, d'hématurie et de métrorragies peuvent orienter vers une anomalie de l'hémostase primaire touchant les plaquettes. Les hémorragies observées dans l'hémophilie ou les atteintes du complexe prothrombinique sont le plus souvent provoquées. Il

s'agit d'hématomes, d'hémarthroses et d'hématuries dans l'hémophilie et d'hématomes, d'hématuries et d'hémorragies digestives ou cérébrales dans les atteintes des facteurs du complexe prothrombinique. Les hémorragies peuvent être spontanées ou provoquées, à type d'écchymoses volontiers en cartes de géographie, d'hématurie ou d'hémorragies aux points de piqûre dans le syndrome de défibrination ou d'hyperfibrinolyse. La réalisation d'un myélogramme en complément de l'hémogramme peut s'avérer nécessaire en cas de suspicion d'hétopathie maligne. La ponction sternale nécessite des précautions particulières en cas de maladie hémorragique sévère (hémophilie, syndromes de défibrination graves).

### Étapes du diagnostic biologique

Le point de départ du diagnostic biologique repose sur des tests de première intention :

- hémogramme avec numération des plaquettes et examen morphologique sur lame;
- temps de saignement (TS) ou temps d'occlusion (PEA 100);
- TQ;
- TCA.

Le dosage du fibrinogène ou le temps de thrombine (TT) sont parfois prescrits.

### Importance de l'étape préanalytique

La fiabilité des résultats obtenus dépend du respect des conditions préanalytiques. Il convient de privilégier le prélèvement au laboratoire et de respecter scrupuleusement les recommandations préanalytiques de ce dernier. Les conditions de prélèvement, la qualité de la prise de sang et l'utilisation de tubes à prélèvement appropriés sont essentielles, de même que les conditions de transport des prélèvements au laboratoire. Certains examens peuvent être réalisés ultérieurement sur un échantillon de plasma conservé dans des conditions bien définies.

### Examens biologiques essentiels

#### ☐ Hémogramme

Outre les informations relatives aux lignées rouge et blanche, l'hémogramme permet de détecter une éventuelle thrombopénie modérée (plaquettes entre 50 et 120 G/l) ou importante (plaquettes < 50 G/l). En plus de la découverte d'une anémie, qui peut être liée à la maladie hémorragique, l'hémogramme peut révéler une hétopathie responsable d'un saignement motivant la consultation.

#### ☐ Temps de saignement (TS)

La mesure du TS est de moins en moins souvent prescrite. Deux techniques sont principalement utilisées pour le TS :

La méthode de Duke consiste en une incision pratiquée au lobe de l'oreille. Mal standardisée et peu sensible, cette technique est déconseillée, voire abandonnée, et aujourd'hui souvent remplacée par la méthode d'Ivy :

la méthode d'Ivy consiste à réaliser une incision standardisée sous une pression de 40 mmHg avec un brassard de tensiomètre au niveau de la face interne de l'avant-bras. Le sang qui s'écoule est recueilli grâce à un papier-filtre toutes les 30 s, sans toucher la plaie. Le TS normal avec la méthode d'Ivy (incision horizontale) est de 4 à 8 min. Le dispositif à usage unique (Surgicut), pour adulte, et le modèle pédiatrique peuvent être utilisés. Une variante consiste à réaliser trois points de saignement avec une micro lance à la place de l'incision et à mesurer le TS (valeurs de référence : 2 à 4 min).

Le TS explore la phase primaire de l'hémostase. Il peut être allongé en cas de thrombopénie, de thrombopathie constitutionnelle ou acquise ou de maladie de Willebrand. Il peut néanmoins être normal dans certains variants (variant de Normandie type 2 N) ou dans les formes modérées de la maladie de Willebrand et dans le variant Normandy. C'est un test peu sensible : un TS normal ne permet pas d'exclure formellement un trouble de l'hémostase primaire. Certains médicaments peuvent également être responsables d'un allongement du TS (aspirine, AINS, ticlopidine [Ticlid], clopidogrel [Plavix] par exemple). Il est à noter que la réalisation d'un TS chez un patient ayant une numération de plaquettes < 50 G/l peut comporter un risque hémorragique. Le manque de corrélation entre le résultat et le risque hémorragique, son caractère opératoire dépendant et son défaut de sensibilité en limitent la pertinence clinique. Son intérêt pratique reste discuté ; il est de plus en plus délaissé par les cliniciens.

Un nouvel automate a récemment été développé, le PEA-100 (*automated platelet function analyser-Siemens*). Il permet la réalisation d'un temps d'occlusion (TO) plaquettaire. Il réalise une hémostase primaire artificielle *in vitro* où le temps de formation du clou plaquettaire sous la contrainte de forces de cisaillement élevées est mesuré en sang total citraté. En raison de sa commodité d'utilisation, de la simplicité de sa réalisation et de son caractère non invasif, il remplace de plus en plus fréquemment le TS. Son intérêt dans l'évaluation du risque hémorragique clinique n'est pas encore démontré. En revanche, il est performant dans le diagnostic de la maladie de Willebrand et dans les thrombopathies.

#### ☐ Temps de Quick (TQ)

Le TQ est le temps de coagulation d'un plasma citraté pauvre en plaquettes recalcifié en présence de thromboplastine de lapin, de placenta humain ou recombinante humaine.

Les résultats sont exprimés en secondes par rapport à un pool de plasmas témoins. En France, les résultats sont classiquement exprimés en pourcentages : 100 % correspond à l'activité d'un pool de plasma normal, 50 % d'activité à ce même pool dilué au demi en solution tampon et ainsi de suite. Pour le suivi des traitements par AVK, c'est l'expression en INR (*international normalized ratio*) qui doit être préférée. Ce mode d'expression limite la variabilité inter-réactifs des résultats en prenant en compte un indice de sensibilité propre au réactif utilisé, l'indice de sensibilité international (ISI).



Le test explore la voie « extrinsèque » de la coagulation, c'est-à-dire les facteurs II, V, VII, X et le fibrinogène. Un déficit quantitatif ou qualitatif en l'un ou plusieurs de ces facteurs entraîne un allongement du TQ proportionnel au déficit. La sensibilité du test dépend du réactif utilisé. Le TQ est allongé en cas de traitement par les AVK. Les réactifs contiennent pour la plupart un inhibiteur de l'héparine qui les rendent plus ou moins insensibles à cette dernière, tout au moins aux concentrations habituellement rencontrées en thérapeutique. Les valeurs normales exprimées en pourcentage sont en général comprises entre 80 et 100 % alors que les valeurs > 100 % sont difficiles à interpréter. En règle générale, les réactifs sont assez peu sensibles aux anticoagulants circulants (ACC) qui peuvent néanmoins être responsables dans certains cas d'un allongement du TQ. Contrairement à celui observé dans les déficits, cet allongement n'est pas corrigé par l'addition à volume égal d'un plasma témoin issu d'un pool de plasmas normaux ou fourni par un laboratoire et destiné à cet usage.

#### □ Temps de céphaline avec activateur (TCA)

Le TCA est le temps de coagulation d'un plasma citraté pauvre en plaquettes et recalifié en présence de céphaline jouant le rôle de substitut plaquettaire et d'un activateur de la phase contact de la coagulation.

Les résultats sont exprimés en secondes par rapport à celui d'un pool de plasmas normaux appelé témoin. Le résultat est en général considéré comme anormal si le rapport TCA du malade sur TCA du témoin dépasse 1,20. Le TCA est par ailleurs plus long chez les enfants, pour lesquels il n'existe pas de valeurs de référence clairement établies : il se raccourcit avec l'âge. Il est plus court aussi dans certaines situations physiopathologiques (grossesse, syndrome inflammatoire) qui s'accompagnent d'une augmentation plus ou moins importante du taux de FVIII et/ou du fibrinogène. L'interprétation des raccourcissements reste difficile à interpréter après l'élimination d'un éventuel artefact lié aux conditions préanalytiques (hémolyse, activation mécanique par exemple).

Le test explore la voie « intrinsèque » de la coagulation : il permet d'identifier un déficit quantitatif ou qualitatif en FVIII, FIX, FXI, FXII, en prékallistéine ou en kininogène de haut poids moléculaire (KHPM). Il est moins sensible aux déficits en FII, ainsi qu'aux déficits significatifs en fibrinogène, et aux ACC. En revanche, il est sensible à l'activité anticoagulante de l'HNH. La sensibilité aux HBPM est faible pour les doses prophylactiques, et augmente dans les traitements d'un accident constitué. Sa sensibilité à un ACC lupique est variable selon les réactifs utilisés :

- classiquement, les réactifs dont l'activateur est le kaolin sont peu sensibles ;
- les réactifs dont l'activateur est l'acide ellagique sont insensibles aux déficits en facteurs de la phase contact.

Idealement, il faut tenir compte de l'indication de l'examen dans le choix du réactif utilisé.

Devant tout allongement du TCA, le biologiste doit réaliser une épreuve de correction par mélange à parties égales du plasma du patient et d'un pool de plasmas normaux : cette épreuve est appelée TCA<sub>M+T</sub>. Elle permet d'orienter :

soit vers un déficit constitutionnel ou acquis en un facteur de la coagulation épuré par le TCA, dans ce cas le TCA<sub>M+T</sub> (mesuré sur un mélange de plasma malade + plasma témoin) est corrigé : la valeur obtenue est proche de celle du témoin.

soit vers la présence d'un ACC. En présence d'un ACC, le TCA<sub>M+T</sub> n'est pas corrigé : il reste à une valeur éloignée de celle du témoin. En pratique, la correction (ou la non correction) du TCA est objectivée par le calcul de l'indice de Rosner.

#### □ Fibrinogène

Le dosage de fibrinogène par méthode chromométrique (méthode de Clauss) permet de mettre en évidence une hypo- ou une dysfibrinogénémie. Le diagnostic différentiel peut être posé après dosage du fibrinogène par méthode immunologique, ce dernier étant abaissé en cas d'hypofibrinogénémie, mais normal en cas de dysfibrinogénémie.

#### □ Temps de thrombine (TT)

Le TT est allongé aussi bien en cas d'hypofibrinogénémie que de dysfibrinogénémie, de présence d'une activité inhibitrice de type antithrombinique ou d'un traitement par l'HNH. L'allongement est moindre, voire nul, en cas de traitement par une HBPM. Il dépend ici encore de la préparation d'HBPM utilisée et de la dose administrée. Il convient d'observer que les temps de reptase et de l'écarine ne sont pas allongés en cas de traitement par l'héparine (non fractionnée ou de bas poids moléculaire). Ces tests ne sont toutefois pas réalisés en routine.

L'hirudine, ses dérivés et les agents antithrombiniques directs (mélégatran, argatroban, dabigatran [Pradaxa], bivalirudine [AngioX]) allongent le TT et le temps d'écarine.

Le diagnostic spécifique de l'anomalie en cause nécessite le recours à des tests plus spécialisés. Les mécanismes à envisager pour expliquer la diminution du taux d'un facteur de la coagulation sont résumés dans le tableau 1.III.

**Tableau 1.III. Principaux mécanismes pouvant expliquer des taux abaissés des facteurs de la coagulation**

- Déficit de synthèse (déficit quantitatif)
- Synthèse d'un facteur de la coagulation qualitativement anormal à activité fonctionnelle réduite (déficit qualitatif)
- Présence d'un inhibiteur spécifique
- Consommation par des thromboses ou fixation du facteur sur des tissus ou des cellules (exemple : FX dans l'amylose)
- Consommation accélérée (ex. : CIVD)
- Hémodilution

Au total, ces différents tests orientent le diagnostic précis de la maladie hémorragique (tableau 1.IV).

Tableau 1.IV. Tests biologiques classiques

	Maladie des vaisseaux	Maladie de Willebrand	Maladie des plaquettes		Maladie de la coagulation
			Thrombopénie	Thrombopathie	
Nombre des plaquettes	N	N ou $\blacktriangleright$	$\blacktriangleright$	N	N
TS	N ou $\blacktriangleright$	N ou $\blacktriangleright$	$\blacktriangleright$	$\blacktriangleright$	N
TQ	N	N	N	N	N ou An
TCA	N	N ou $\blacktriangleright$	N	N	N ou An

N : normal, An : anormal,  $\blacktriangleright$  diminué,  $\blacktriangleleft$  allongé

Dans de plus rares circonstances, l'exploration de la fibrinolyse peut s'avérer utile, en particulier lors d'un syndrome de défibrination.

### Recherche d'une défibrination et exploration de la fibrinolyse

#### □ Exploration d'un syndrome de défibrination

Son mécanisme est variable. De plus, l'hyperfibrinolyse est plus rarement incriminée qu'une exagération pathologique du processus de la coagulation.

Cette exploration biologique doit s'attacher à évaluer :

- l'hyperconsommation par l'allongement des temps de coagulation globaux (TQ, TCA, TT) ainsi que le déficit plus ou moins profond en facteurs (fibrinogène, V, VIII, II surtout), la thrombopénie souvent marquée et même parfois la diminution significative des inhibiteurs physiologiques comme l'AT;
  - l'activation de la fibrinolyse réactionnelle par augmentation de l'activité fibrinolytique globale et un raccourcissement significatif du temps de lyse du caillot de sang total ou d'euglobulines. Une diminution du taux de plasminogène plasmatique est également observée;
  - la mesure des D-Di, fragments spécifiques de la fibrine stabilisée augmentés et dosables par agglutination de particules de latex. Elle est à réponse immédiate et suffisamment sensible;
  - la formation de complexes solubles issus de l'association de monomères de fibrine, formés au cours de la transformation du fibrinogène en fibrine par la thrombine, avec des molécules de fibrinogène ou des fragments de dégradation de la fibrine et/ou du fibrinogène empêchant ainsi la polymérisation de la fibrine.
- Voir également le chapitre consacré à la CIVD.

#### □ Exploration de la fibrinolyse

- L'exploration de la fibrinolyse est le parent pauvre de l'hémostase en raison de :
- l'absence d'un test simple et automatisé de routine évaluant l'activité fibrinolytique;
  - la rare nécessité en clinique de cette exploration.

L'exploration comporte trois objectifs :

- la mise en évidence d'une lyse accélérée du caillot (le temps de lyse des euglobulines est le plus employé) et le dosage des différents paramètres du système fibrinolytique : le dosage des t-PA, plasminogène, PAI1,  $\alpha$ 2-AP, TAFI, et complexes plasminine-antiplasminine (PAP), de connaissance plus récente, sont réservés à des laboratoires spécialisés;
- l'étude du retentissement de la fibrinolyse exagérée sur les tests de coagulation classique, fibrinogène, TP dont l'allongement traduit la protéolyse de la prothrombine ou FV, TCA allongé en cas de diminution du FVIII, en particulier;
- le dosage des produits de dégradation fibrinogène/fibrine et plus récemment celui des D-Di, spécifiques de la lyse de la fibrine. Leur augmentation peut être le reflet d'une hypercoagulation, favorisant dans une réaction secondaire, l'activation du système fibrinolytique.

### Limites de l'exploration classique

En cas de polyglobulie, hématoctrite  $\geq 60\%$ , les temps de coagulation peuvent être faussement allongés. Il faut aussi savoir qu'un taux d'un facteur de la coagulation à 50 % de la normale ne retient ni sur les valeurs du TQ, ni sur celles du TCA. Des résultats normaux n'excluent donc pas systématiquement un déficit modéré. Ainsi pour de nombreux réactifs, le TCA ne s'allonge sensiblement que pour un taux de facteur antihémophilique B (FIX)  $\leq 20\%$ . Une hémophilie B atténuée peut donc être méconnue.

Le TCA est très sensible au déficit en FXI, responsable d'une maladie hémorragique constitutionnelle plus fréquemment rencontrée chez les juifs ashkénazes (originaires de l'Europe) que dans d'autres ethnies.

Il faut rappeler également que les déficits en FXII (facteur Hageman) en prékallikréine ou en KHPM entraînent un allongement important du TCA, sans qu'ils soient responsables d'un risque hémorragique accru. En revanche, ils ne protègent pas contre un accident thrombotique.

Théoriquement, la maladie de Willebrand est associée à un allongement du TCA en raison de la diminution du taux de FVIII. Cet allongement peut manquer dans des formes modérées de la maladie. Un petit nombre d'affections hémorragiques sont compatibles avec des tests classiques d'exploration de l'hémostase parfaitement normaux. Il s'agit par exemple du déficit en  $\alpha$ 2-AP ou en un autre inhibiteur de l'activation du plasminogène et du déficit en FXIII. Il faut savoir rechercher ces altérations devant une diathèse hémorragique très vraisemblable au plan clinique contrastant avec des tests normaux. L'intervention d'un laboratoire spécialisé paraît alors souhaitable.

Au total, un petit nombre de tests est prescrit en pratique courante, mais il faut savoir que tous les facteurs cités dans ces chapitres peuvent être spécifiquement dosés. L'étude éventuelle de l'agrégation plaquettaire, le dosage des différents facteurs de la coagulation et une interprétation appropriée des résultats des examens de laboratoire permettent dans presque tous les cas d'établir un diagnostic précis.

Des tests anciens qui étaient abandonnés suscitent un regain d'intérêt. Ainsi, le test de génération de la thrombine initialement développé en 1953 connaît un

renouveau important avec une automatisation de sa technique et une informatisation des résultats. La thromboélastographie suscite également un nouvel engouement après une longue phase de désintérêt. Elle a l'avantage de pouvoir étudier le sang total et de mesurer la fermeté du caillot. En revanche, un test moderne est apparu : la recherche de microparticules.

Il ne faut pas perdre de vue la performance limitée des tests d'exploration de la coagulation, leur caractère statique, l'absence de thrombomoduline (TM) et des autres partenaires du pool vasculaire. Ceci explique les orientations de la recherche actuelle de tests plus proches de la réalité physiologique. Les examens de recherche d'une hypercoagulabilité sont étudiés dans la deuxième partie de l'ouvrage.

### Exploration particulière de la coagulation

Le test de génération de thrombine (TGT) et la thromboélastographie (TEG), méthodes anciennes, connaissent un regain d'intérêt lié en partie au perfectionnement des appareils de laboratoire et à la mise au point de logiciels pour la gestion de leurs résultats.

#### Le test de génération de thrombine (TGT)

Le TGT permet l'évaluation en continu de la quantité de thrombine générée (thrombogramme) après le déclenchement de la coagulation (par l'addition du  $\text{CaCl}_2$ ) dans un plasma pauvre ou riche en plaquettes, additionné éventuellement de facteur tissulaire à très faible concentration, de phospholipides (voie extrinsèque) ou d'un activateur de la phase « contact » de la coagulation (voie intrinsèque). L'utilisation d'un calibrateur dans le plasma à tester permet l'expression quantitative nanomolaire de la thrombine générée.

Les paramètres du thrombogramme (fig. 1.7) sont :

- *lag-time* : le temps de latence (exprimé en min), qui correspond à la phase d'initiation de la génération de thrombine;
- *peak* : la concentration maximale de thrombine générée, exprimée en nM;
- *time to peak* : le temps (exprimé en min) nécessaire pour arriver à la concentration maximale de thrombine;
- le potentiel endogène de la thrombine (ETP, pour *endogenous thrombin potential*) : c'est l'aire sous la courbe (exprimé en nM/min); l'ETP représente le travail enzymatique réalisé par les molécules de la thrombine pendant le temps où elles sont actives dans le plasma;
- *start-tail* : le temps (exprimé en min) jusqu'au moment où la courbe du thrombogramme revient à la ligne de base;
- index de vitesse moyenne (IVM) : notre équipe a introduit un autre paramètre, qui est informatif sur la vitesse de la phase de propagation. Ce paramètre est calculé selon la formule suivante :

$$\text{IVM} = \frac{\text{peak}}{t_{\text{Peak}} - \text{lag-time}}$$

Il est exprimé en nM/min. L'IVM est influencé par la vitesse de formation de la prothrombinase. L'IVM est un paramètre sensible à l'activité des inhibiteurs

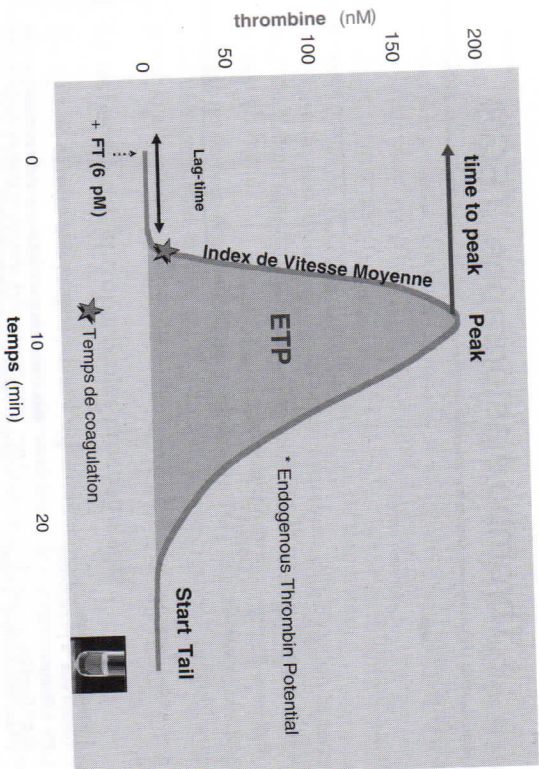


Fig. 1.7. Les paramètres du thrombogramme.

spécifiques du FXa (directs comme le rivaroxaban, ou indirects comme le fondaparinux et l'idaraparinux).

L'expérience de l'utilisation du TGT dans le diagnostic biologique d'un état d'hypercoagulabilité ou d'hypocoagulabilité ou dans la surveillance biologique du traitement anticoagulant ou du traitement hémostatique chez les hémophiles est encore limitée.

Jusqu'à présent la pertinence clinique de l'étude de la génération de thrombine avec un principe méthodologique similaire a été évaluée dans divers contextes cliniques : chez les patients atteints de lupus érythémateux, les patients sous traitement par HNF ou antagonistes de la vitamine K, chez les femmes sous traitement œstrogénostatif, chez les patients ayant une thrombophilie et chez les patients ayant une hémorragie sévère et une thrombopénie profonde traités par le FVIIa recombinant. Le TGT est également utilisé dans l'étude du mécanisme d'action des HBPM, et des nouveaux antithrombotiques.

La standardisation de la méthodologie du thrombogramme est nécessaire afin d'utiliser cette méthode dans les études cliniques. L'influence de la concentration du FT, des phospholipides, des plaquettes, et de l'effet de la congélation du plasma sur les paramètres du thrombogramme a été évaluée dans ce but.

#### La thromboélastographie (TEG)

La TEG, mise au point par Hartert d'Eidelberg en 1948, permet l'étude de la cinétique de formation du caillot et de ses propriétés physiques. La fig. 1.8 illustre son fonctionnement. La TEG a été récemment ressuscitée grâce à une

## Thromboélastographie TEG®

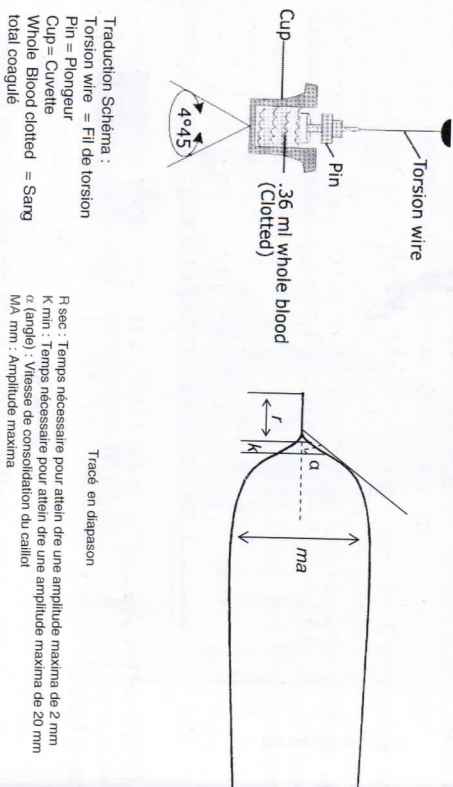


Fig. 1.8. Thromboélastographie comme indiquée sur la figure elle-même.

amélioration de la reproductibilité, et un perfectionnement de l'équipement et de l'informatisation de la méthode. Deux instruments sont disponibles actuellement : l'instrument classique de Hartert, ou TEG (Haemoscope), et l'appareil Rotem de la société Pentapharm. Dans ce dernier, les mouvements d'oscillation du plongeur sont transmis à la cuve par la formation de fibrine. De plus, l'appareillage actuel permet la réalisation de la TEG dans le bloc opératoire ou même au lit du patient.

La TEG a l'avantage de permettre une étude globale du processus de la coagulation sur sang total, en présence de différents réactifs. De plus la préparation de nombreux réactifs présents dans les cuves permet différentes mesures thromboélastographiques. Ainsi, l'addition d'héparinase permet d'étudier la coagulation du sang riche en héparine (chirurgie à cœur ouvert), celle d'aprotinine pour inhiber la fibrinolyse, de kaolin pour accélérer la coagulation ou celle de faibles concentrations de FT pour simuler les conditions *in vivo*.

La TEG est actuellement utilisée essentiellement en biologie délocalisée dans la chirurgie cardiovasculaire, en obstétrique ou éventuellement dans l'étude des nouveaux anticoagulants.

Les paramètres du thromboélastogramme sont :

— la constante  $r$ , ou *clotting time* (CT) selon la terminologie du Rotem, mesure le temps de latence (exprimé en minutes) correspondant au temps qui précède l'apparition des premiers filaments de fibrine ;

— la constante  $k$ , ou *clot formation time* (CFT) selon la terminologie du Rotem, mesure le temps (exprimé en minutes) depuis la fin du *clotting time* jusqu'au moment où les deux branches s'écartent de 20 mm ; le  $k$  est une constante mesurant le temps de coagulation initiale. L'amplitude de 20 mm correspond à l'amplitude observée pour un plasma normal déplaqué ;

— l'angle  $\alpha$  (exprimé en degrés) témoin de la vitesse de la fibrinoformation, et serait peut-être lié à la vitesse de génération de thrombine ;

— l'amplitude maximale, ou *maximum clot firmness* (MCF) selon la terminologie du Rotem (exprimé en mm), renseigne sur la force du caillot plutôt que sur son élasticité.

La standardisation des techniques explorant le TGT est en cours. Les applications cliniques sont encore du domaine de l'investigation clinico-biologique, même si elle est déjà utilisée en biologie délocalisée.

### La recherche des microparticules procoagulantes

Il s'agit du dernier test proposé dans l'exploration moderne de la coagulation. Un petit nombre de techniques sont disponibles ; elles restent encore toutefois réservées à un nombre très restreint de laboratoires. Elles devraient permettre de mettre en évidence des états d'hypercoagulabilité biologique. Le dosage de microparticules procoagulantes d'origine plaquettaire s'effectue principalement par la méthodologie de cytométrie en flux. Des tests fonctionnels de la coagulation sont également proposés. Cependant ces tests ne sont pas encore validés en pratique clinique. Des travaux récents de recherche montrent que la concentration des microparticules d'origine plaquettaire est augmentée dans le plasma des patients atteints d'athérombose et de diabète.

### BIBLIOGRAPHIE

- CHEE YL, CRAWFORD JC, WATSON HG, GREAVES M. Guidelines on the assessment of bleeding risk prior to surgery or invasive procedures. *Br J Haematol* 2008 ; 140 : 496-504.
- DARGAUD Y, TRZECIAK MC, BORDET JC, NINET J, NEGRIER C. Use of calibrated automated thrombinography ± thrombomodulin to recognise the prothrombotic phenotype. *Thromb Haemost* 2006 ; 96 : 562-567.
- DARGAUD Y, LUDDINGTON R, GRAY E, NEGRIER C, LECOMPTTE T, PETROS S, HOGWOOD J, BORDET JC, REGNAULT V, SIEGEMUND A, BAGLIN T. Effect of standardization and normalization on imprecision of calibrated automated thrombography : an international multicentre study. *Br J Haematol* 2007 ; 139 : 303-309.
- GEROTZIAFAS GT, DEPASSE F, CHAKROUN T, VAN DREDDEN P, SAMAMA MM, ELALAMY I. Comparison of the effect of fondaparinux and enoxaparin on thrombin generation during in vitro clotting of whole blood and platelet rich plasma. *Blood Coag Fibrinol* 2004 ; 15 : 149-156.
- GEROTZIAFAS GT, DEPASSE F, BUSSON J, LEFLEM L, ELALAMY I, SAMAMA MM. Towards a standardization of thrombin generation assessment : The influence of tissue factor, platelets and phospholipids concentration on the

normal values of Thrombogram-Thrombinoscope assay. *Thrombosis Journal* 2005; 3 : 16.

HEZARD N, BOUAZIZ-BORGI L, REMY MG, NGUYEN P. Utility of thrombin-generation assay in the screening of factor V G1691A (Leiden) and prothrombin G20210A mutations and protein S deficiency. *Clin Chem* 2006; 52 : 665-670.

REGNAULT V, BEGUIN S, WAHL D, DE MAISTRE E, HEMKER C, LECOMTE T. Thrombinography shows acquire resistance to activated protein C in patients with lupus anticoagulants. *Thromb Haemost* 2003; 89 : 208-212.

REGNAULT V, BEGUIN S, LECOMTE T. Calibrated automated thrombin generation in frozen-thawed platelet-rich plasma to detect hypercoagulability. *Pathophysiol Haemost Thromb* 2003; 33 : 23-29.

VANSCHOONBECK K, FEIJDE MA, VAN KAMPEN RJ, KENNIS H, HEMKER HC, GIESEN PL, HEEMSKERK JW. Initiating and potentiating role of platelets in tissue factor-induced thrombin generation in the presence of plasma : subject-dependent variation in thrombogram characteristics. *J Thromb Haemost* 2004; 2 : 476-84.

WIELDEKS S, MUKHERJEE M, MICHELS J, RUKERS DT, CAMBUS JP, KNEBEL RW, KAKKAR V, HEMKER HC, BEGUIN S. The routine determination of the endogenous thrombin potential, first results in different forms of hyper- and hypocoagulability. *Thromb Haemost* 1997; 77 : 629-36.

## PATHOLOGIE DE L'HÉMOSTASE

Ismail ELALAMY, François DEPASSE, Gregoris GEROTZIAFAS,  
Meyer-Michel SAMAMA

Elle comprend classiquement les altérations de :

- l'hémostase primaire;
- de la coagulation;
- de la fibrinolyse.

Ce chapitre liste les nombreuses affections hémorragiques avec quelques unes de leurs caractéristiques essentielles, mais dont la plupart fait l'objet d'une étude détaillée dans l'ouvrage.

### Pathologie de l'hémostase primaire

Les anomalies congénitales de l'hémostase primaire sont rares et les altérations acquises de loin les plus fréquentes.

Il est classique de distinguer trois grands groupes d'affections :

- les altérations de la paroi vasculaire;
- les perturbations quantitatives et/ou qualitatives des plaquettes;
- la maladie de Willebrand constitutionnelle et les déficits acquis en VWF.

### Altérations de la paroi vasculaire

En cas de malformation vasculaire (la télangiectasie par exemple), des hémorragies sont décrites sans qu'aucun test de l'hémostase ne soit perturbé. Auparavant explorée par le signe du brassard, du lacet ou de la ventouse, une fragilité capillaire correspond à une tendance aux ecchymoses et à des saignements mineurs, voire « cosmétiques ». Les autres tests d'hémostase sont tout à fait normaux.

L'atteinte de la paroi capillaire peut provoquer un purpura ayant l'allure de pétéchies (punctuations), d'ecchymoses plus ou moins étendues ou de vibices (stries allongées).

L'origine est immunologique, infectieuse ou le plus souvent indéterminée ou idiopathique. Les facteurs plasmatiques ainsi que les fonctions plaquettaires sont normaux. Les tests de fragilité capillaire (signe du brassard à tension, ventouse) sont souvent positifs, mais leur intérêt est très limité; l'examen clinique suffit le plus souvent pour reconnaître la fragilité capillaire. Le pronostic est fonction d'une éventuelle affection concomitante.

Différentes formes de purpuras sont décrites :

- purpura par vasculature leucocytoclastique, purpura rhumatoïde ou syndrome de Schönlein-Henoch (vasculature leucocytoclastique à IgA);
- purpura fulminans méningococcique de pronostic sévère associé à une CIVD. Il doit être traité en urgence;
- purpuras de diverses origines : vasculaires septiques à germes Gram + ou Gram-, maladies éruptives (rougeole, rubéole, scarlatine), maladie d'Osler, purpuras par fragilité capillaire (sénile, scorbut, corticothérapie prolongée).

### Atteinte plaquettaire

Elle peut être quantitative avec une diminution (thrombopénies le plus souvent acquises) ou une augmentation (thrombocytose secondaire ou thrombocytémie primitive). Des perturbations fonctionnelles peuvent être associées. Les thrombopathies sont essentiellement acquises ou très exceptionnellement constitutionnelles. La découverte récente de la mutation JAK2 est une avancée diagnostique importante.

#### Thrombopénies

La thrombopénie est la diminution de la numération plaquettaire en dessous de 120 G/L. Pour certains auteurs, il suffit que ce chiffre soit < 150 G/L.

##### • Thrombopénies d'origine centrale

Elles sont acquises ou beaucoup plus rarement constitutionnelles.

##### • Thrombopénies périphériques

Les mécanismes responsables des thrombopénies périphériques sont de trois types :

- par hyperdestruction;

- par anomalie de répartition (hypersplénisme);
- par hyperconsommation (CIVD, microangiopathie...).

### ❑ Thrombocytoses et thrombocytémies

La thrombocytose est l'augmentation secondaire de la numération plaquettaire au-dessus de 450 G/l notée à plusieurs examens biologiques successifs. La thrombocytémie est l'augmentation primitive de la production plaquettaire dans le cadre d'un syndrome myéloprolifératif.

#### • Thrombocytoses réactionnelles

Physiologiquement, la rate sécrète un régulateur hormonal de la production médullaire de plaquettes. Elle séquestre également 20 à 30 % des plaquettes circulantes. La numération s'élève 2 jours après une splénectomie jusqu'à 1 000 G/l en 7 à 15 jours. Puis elle régresse en 1 à 2 mois (voire 6 mois) pour se stabiliser généralement entre 500 et 700 G/l. En dessous de 600 G/l, aucune thérapeutique antiagrégante plaquettaire n'est habituellement envisagée.

En dehors de la splénectomie, les causes des thrombocytoses secondaires sont de diverses origines : l'anémie ferriprive (hyposidéémie), les anémies hémolytiques, les réactions inflammatoires, la sécrétion d'une substance *thrombopoïétine-like* par certains tumeurs, voire les traitements par HBPM.

Une thrombocytose persistante confirmée par des numérations successives peut être révélatrice ou concomitante de :

- cancers (30 à 40 % des cas);
- maladies infectieuses aiguës ou chroniques et autres pathologies inflammatoires (17 à 30 % des cas);
- carence martiale.

#### • Thrombocytémies primitives

Elles accompagnent les syndromes myéloprolifératifs : polyglobulie de Vaquez, leucémie myéloïde chronique, splénomégalie myéloïde ou thrombocytémie essentielle elle-même.

### Maladie de Willebrand

C'est la plus fréquente des anomalies constitutionnelles de l'hémostase, définie par une altération quantitative ou qualitative du VWF. Elle est étudiée en détails plus loin. Les déficits en VWF peuvent être quantitatifs (types 1 et 3) ou qualitatifs (types 2). La transmission est autosomale, le plus souvent dominante. La prévalence des hétérozygotes se situe entre 0,6 et 1 %.

### Pathologies de la coagulation

Sont ici étudiées les altérations biologiques pouvant être responsables d'un syndrome hémorragique clinique (tableau 1.V). Les anomalies responsables d'un risque accru de thrombose font l'objet d'un autre chapitre.

Tableau 1.V. Variations physiopathologiques des facteurs de la coagulation

Facteur	Adulte sain	Fœtus (20 semaines)	Prématuré (25-32 semaines)	Nouveau-né	Nourrisson (6 mois)	Nouveau-né à terme	Exercice	Personne âgée (70-80 ans)
<b>Plaquettes</b>								
Taux (G/l)	250	107-297	293	332		260	↗ 18-40 %	225
Taille (fl)	9,0	8,9	8,5	9,1		9,6	↗	
Agrégation ADP	N	+	↘	↘		↗	↘ 15 %	
Collagène	N	↘	↘	↘		N	↘ 60 %	N
Ristocétine	N		↗	↗			↘ 10 %	
TS (min)	2-9		3,6 ± 2	3,4 ± 1,8		9,0 ± 1,4		5-6
<b>Coagulation</b>								
TCA	1	4,0	3	1,3	1,1	1,1	↘ 15 %	↘
TP	1,00	2,3	1,3	1,1	1	0,95	N	
TT	1	2,4	1,3	1,1	1	0,92	N	
Fibrinogène (mg/dl)	278	96	250	240	251	450	↘ 25 %	↗ 15 %
FII (U/ml)	1	0,16	0,32	0,52	0,88	1,15		N
FV (U/ml)	1,0	0,32	0,80	1,00	0,91	0,85		N
FVII (U/ml)	1,0	0,27	0,37	0,57	0,87	1,17	↗ 200 %	↗ 25 %
FVIIIc (U/ml)	1,0	0,50	0,75	1,50	0,90	2,12	↗ 250 %	1,50
VWF (U/ml)	1,0	0,65	1,50	1,60	1,07	1,7	↗ 75-200 %	↗
F IX (U/ml)	1,0	0,10	0,22	0,35	0,86	0,81-2,15	↗ 25 %	1,0-1,40

Tableau 1.V. Variations physiopathologiques des facteurs de la coagulation (suite)

Facteur	Adulte sain	Fœtus (20 semaines)	Prématuré (25-32 semaines)	Nouveau-né	Nourrisson (6 mois)	Nouveau-né à terme	Exercice	Personne âgée (70-80 ans)
FX (U/ml)	1,0	0,19	0,38	0,45	0,78	1,30		N
FXI (U/ml)	1,0	0,13	0,2	0,42	0,86	0,7		N
FXII (U/ml)	1,0	0,15	0,22	0,44	0,77	1,3		↗ 16 %
FXIII (U/ml)	1,04	0,30	0,4	0,61	1,04	0,96		
Prékallicréine (U + ml)	1,12	0,13	0,26	0,35	0,86	1,18		↗ 27 %
Kininogène de haut PM (U/ml)	0,92	0,15	0,28	0,64	0,82	1,6		↗ 32 %
<b>Anticoagulants</b>								
AT (U/ml)	1,0	0,23	0,35	0,56	1,04	1,02	↗ 14 %	N
α2-MacroG (U/ml)	1,05	0,18		1,39	1,91	1,53		
C1 inhibiteur estérase (U/ml)	1,01			0,72	1,41			
PC (U/ml)	1,0	0,10	0,29	0,50	0,59	0,99	N	N
PS totale (U/ml)	1,0	0,15	0,17	0,24	0,87	0,89		N
PS libre (U/ml)	1,0	0,22	0,28	0,49		0,25		
Cofacteur II de l'héparine (U/ml)	1,01	0,10	0,25	0,49	0,97			↘ 15 %
TFPI (ng/ml)	73	21	20,6	38				

Tableau 1.V. Variations physiopathologiques des facteurs de la coagulation (suite)

Facteur	Adulte sain	Fœtus (20 semaines)	Prématuré (25-32 semaines)	Nouveau-né	Nourrisson (6 mois)	Nouveau-né à terme	Exercice	Personne âgée (70-80 ans)
<b>Fibrinolyse</b>								
Plasminogène (U/ml)	1,0	0,20	0,35	0,37	0,90	1,39	↘ 10 %	N
t-PA (ng/ml)	4,9		8,48	9,6	2,8	4,9	↗ 300 %	N
α2-AP (U/ml)	1,0	1,0	0,74	0,83	1,11	0,95	N	N
PAI1 (U/ml)	1,0		1,5	1,0	1,07	4,0	↘ 5 %	N
Activité fibrinolytique globale	N	↗	↗	↗	↗	↘	↗	↘

D'après Hemostasis and Thrombosis Basic Principles and Clinical Practice JB Lippincott Compagny, 1994.

**Déficits constitutionnels par atteinte exclusive d'un seul facteur**

Ils sont très peu fréquents. En règle générale, il s'agit d'un déficit isolé en un facteur de la coagulation par opposition aux déficits acquis qui impliquent en général l'atteinte de plusieurs facteurs. Leur gravité est liée au facteur en cause et à la profondeur du déficit. Les maladies pilotes de ce groupe sont :

- l'hémophilie A (déficit en FVIII) ;
- l'hémophilie B (déficit en FIX).

Pour les hémophilies, un chapitre de l'ouvrage leur est entièrement consacré (voir chapitre 2).

Les déficits en FII, FV, FVII et FX ont une même traduction clinique : les formes hétérozygotes sont habituellement asymptomatiques et les formes homozygotes sont associées à des accidents hémorragiques. Les déficits constitutionnels en facteur de la coagulation peuvent être quantitatifs ou qualitatifs. Pour les déficits isolés en FII, FV, FVII ou FX une origine acquise doit être éliminée, par exemple les autoanticorps associés aux ACC de type lupus ou au syndrome des antiphospholipides (SAPL). Le déficit isolé en FX est décrit dans l'amylose.

En cas de déficit en fibrinogène, il est classique de distinguer les déficits qualitatifs ou dysfibrinogénémies et les déficits quantitatifs ou hypofibrinogénémies. En fait, il existe aussi des hypodysfibrinogénémies. La dysfibrinogénémie est relativement plus fréquente avec plus d'une centaine de familles rapportées dans la littérature. De transmission autosomale dominante, elle est dans la plupart des cas asymptomatique et de découverte le plus souvent fortuite. Toutefois, les déficits en FXII, prékallïcérine et KHPM ne comportent pas de risque hémorragique.

**Déficits associés constitutionnels**

Ils sont exceptionnels. Il est ainsi décrit un déficit familial conjugué en FV et FVIII. Ce déficit est la conséquence d'une seule anomalie génétique récemment identifiée. Elle est responsable d'hémorragies provoquées et de saignements cutanéomuqueux.

**Déficits acquis en FII, FV, FVII, FIX et FX**

Un trouble du métabolisme de la vitamine K acquis est souvent responsable de ces déficits à l'exclusion de celui du FV : icère récentonnel, sprue, maladie cœliaque ou résection intestinale étendue. La maladie hémorragique du nouveau-né est en grande partie liée à l'hypovitaminose K.

Les déficits en vitamine K ou la prise d'AVK entraînent ainsi la génération de protéines induites en l'absence ou par un antagoniste de vitamine K (PIVKA, *protein induced by vitamin K antagonist or absence*).

De très rares anomalies génétiques, entraînant un déficit de tous les facteurs vitamine K-dépendants, ont été décrites.

L'insuffisance hépatocellulaire est associée à des déficits souvent complexes et multiples. Les anomalies résultent d'une atteinte vasculaire ou d'un hypersplénisme avec hypertension portale ou d'une atteinte posthépatique avec des troubles de synthèse ou même une coagulopathie de consommation aboutissant à des tableaux biologiques hétérogènes et de sévérité variable. Les premiers facteurs atteints sont ceux dont la demi-vie est la plus courte. C'est le cas par exemple des FVII et FX, ainsi que des PS, PC et PZ. En cas d'atteinte parenchymateuse plus importante, il apparaît alors une diminution des taux de FV et de fibrinogène, puis d'AT ainsi que de plasmogène et de PAII.

**Inhibiteurs acquis**

L'apparition dans le sang de différents inhibiteurs spécifiques d'un facteur de la coagulation est à l'origine de rares syndromes hémorragiques. Les anticoagulants spécifiques sont retrouvés dans des contextes dysimmunitaires tels que le lupus érythémateux disséminé (LED), la polyarthrite rhumatoïde, les hémopathies malignes, le diabète, les traitements antibiotiques ou le post-partum. Les plus fréquents sont les anti-VIII qui restent dans la moitié des cas d'origine idiopathique. Ils représentent une véritable urgence hémato-logique car, chez près de 90 % des patients, la symptomatologie fonctionnelle est hémorragique et potentiellement grave : hématomes profonds, rétropérito-néaux, intracérébraux, avec un pronostic réservé (20 % de décès). Le diagnostic est suspecté sur un allongement significatif du TCA isolé non corrigé par l'apport de plasma témoin en parties égales. Les taux de FVIII coagulant sont effondrés.

Les maladies de Willebrand acquises sont décrites dans les dysglobulinémies, les syndromes lymphoprolifératifs ou myéloprolifératifs, les cancers ou les dysthyroïdies.

Des antithrombines (anti-IIa) ont été rapportées dans les suites d'intervention chirurgicale ayant requis l'utilisation de colles hémostatiques contenant de la thrombine bovine.

Des anti-XI comme des anti-XII et des anti-prékallïcérine sont retrouvés dans certaines collagénoses. En revanche, ils ne sont pas inducteurs de complications hémorragiques.

Des inhibiteurs du fibrinogène et de la fibrinoformation ont même été rapportés dans certains syndromes lymphoprolifératifs (pour leur étude détaillée, voir chapitre 2).

**Pathologie de la fibrinolyse****Hyperfibrinolyse**

Une fibrinolyse excessive non compensée est l'une des causes de défibrination. L'hyperfibrinolyse favorise le saignement et l'hypofibrinolyse la thrombose. Elles sont le plus souvent acquises et exceptionnellement constitutionnelles.



Une augmentation de l'activité fibrinolytique associée à une traduction clinique, c'est-à-dire à des accidents hémorragiques, est très rare. L'augmentation la plus fréquente est celle qui est réactionnelle à une CIVD ou à un traitement thrombolytique. Ainsi, l'adsorption d'une concentration importante de l'activateur du plasminogène sur des dépôts de fibrine entraîne leur dissolution précoce pouvant être à l'origine d'un saignement digestif ou autre. Née de l'activation du plasminogène, la plasmine ne peut pas faire la différence entre un thrombus hémostatique et un dépôt de fibrine anormal comme une thrombose.

L'hyperfibrinolyse induite par un traitement thrombolytique est le meilleur exemple d'une hyperfibrinolyse hémorragique (1 % d'hémorragies intracérébrales).

### Altérations constitutionnelles ou acquises

Un déficit en inhibiteur augmente le risque hémorragique, tandis que celui en plasminogène prédispose à la thrombose.

### Déficits constitutionnels en inhibiteurs physiologiques de la fibrinolyse

Le déficit en  $\alpha_2$ -AP (ou maladie de Miyasato) a été découvert au Japon dans les années 1990. Seule la forme homozygote a une expression clinique faite de saignements sévères, incluant même des hémarthroses. Il faut savoir y penser malgré sa très grande rareté.

Le déficit en PAII est également très rare. Des observations ont été rapportées à l'occasion d'hémorragies du post-partum ou d'un tableau hémorragique fait d'épistaxis, d'hémorragies après amygdaléctomie ou extraction dentaire.

Dans ces deux affections, les inhibiteurs de la fibrinolyse (en particulier l'acide tranexamique) sont efficaces pour prévenir ou combattre le saignement.

### Hyperfibrinolyse acquise

Il existe aussi très vraisemblablement des états d'hyperfibrinolyse localisée sans expression systémique significative, par exemple au niveau de la sphère orale, gastro-intestinale, génitale ou même cérébrale, plus ou moins identifiés. Les cas les mieux étudiés ont été rapportés dans des cancers de la prostate, du pancréas ou du foie. Les tumeurs vasculaires et les anévrysmes peuvent être aussi responsables d'une hyperfibrinolyse. Le diagnostic différentiel entre fibrinolyse réactionnelle à une CIVD et fibrinolyse primaire a été codifié à l'aide d'examen de laboratoire, mais il n'est pas toujours facile d'aboutir avec sécurité à une conclusion définitive. Ceci est souvent le cas dans certaines leucémies, l'amylose, la cirrhose du foie, ou lors des accidents de défibrination obstétricale avec embolie amniotique, voire hématome rétroplacentaire.

Les cas les mieux documentés ont été des malades atteints de leucémie promyélocytaire avant l'introduction de l'acide transrétinoïque. Chez ces patients, l'existence d'une augmentation de l'activité fibrinolytique participant au tableau hémorragique avait été bien mise en évidence.

L'hyperfibrinolyse a même été identifiée après des lésions importantes du tissu cérébral et après électrochoc.

Au total pour les spécialistes, une dizaine de conditions, citées ci-dessus, ont été ainsi reconnues comme pouvant être associées à une hyperfibrinolyse secondaire.

### Syndromes de défibrination

Les coagulopathies de consommation ou CIVD sont rencontrées dans de nombreux contextes pathologiques.

### BIBLIOGRAPHIE

- AIRD WC. Endothelium in health and disease. *Pharmacol Rep* 2008; 60 (1) : 139-143.
- BICK RL. Disorders of thrombosis and hemostasis. Clinical and laboratory practice. 3<sup>e</sup> édition, Lippincott Williams and Wilkins, Philadelphia, 2002.
- ELALAMY I, SAMAMA MM. Physiologie de l'hémostase. *Encycl Med Chir* Angéiologie, Elsevier, Paris, 2001.
- FURIE B, FURIE C. In vivo thrombus formation. *J Thromb Haemost* 2007; 5 : 12-17.
- FURIE B, FURIE C. Thrombus formation in a living mouse. *J Pathophysiol Haemost Thromb* 2006; 35 : 1-4.
- HOFFMAN M, MONROE DM. Coagulation 2006 : a modern view of haemostasis. *Hematol Oncol Clin N* 2007; 21 : 1-11.
- MANN K, BRUNMEL K, BUTENAS S. What is all thrombin for? *J Thromb Haemost* 2003; 7 : 1504-1514.
- MEDCALF RL. Fibrinolysis, inflammation and regulation of the plasminogen activating system. *J Thromb Haemost* 2007; 5 : 132-142.
- MONROE MD, KEY NS. The tissue factor-factor VIIa complex : procoagulant activity, regulation and multitasking. *J Thromb Haemost* 2007; 5 : 1097-1105.
- ZITTOUN R, SAMAMA MM, MARIE JP. Manuel d'hématologie. 5<sup>e</sup> édition, Paris, Doim, 1998.
- ZORIO E, GILBERT-ESTELLES J, ESPANA F, RAMON LA, COSIN R, ESTELLES A. Fibrinolysis : the key to new pathogenetic mechanisms. *Curr Med Chem* 2008; 15 : 923-929.